

哺乳類を用いた人健康への内分泌攪乱作用に関する
試験結果

詳細版

平成12年度優先物質の試験結果まとめ表について

試験結果のまとめ表(案)に環境省及び経済産業省が実施した生体内(*in vivo*)試験及び環境省が実施した試験管内(*in vitro*)試験結果を記載した。実施中の試験については、その旨記載した。

生体内(*in vivo*)試験結果のとりまとめについて

環境省が実施した試験結果を「内分泌攪乱作用が疑われる物質のスクリーニング・試験法(哺乳類)評価検討会」の評価・助言に従い、以下の項目に分類し、投与量ごとに「A」、「B」、「C」、「D」、「S」、「P」を記載した。

「A」に分類された試験結果については、まとめ表の欄外に記載するとともに、信頼性の認められた既報告において報告されている結果については下線を付した。また、「B」、「C」、「S」、「P」に分類された試験結果については、表中に結果を記載した。

備考欄には、投与方法、投与期間について記載した。

- A：影響が既に認められている用量(LOEL, LOAEL)付近で有意な所見が認められた。
- B：影響が既に認められている用量(LOEL, LOAEL)未満で有意な反応が認められた。
- C：影響が既に認められている用量(LOEL, LOAEL)未満で有意な反応が認められたが、生理的変動の範囲内であると考えられた。
- D：有意な反応は認められなかった。
- S：影響が既に認められている用量(LOEL, LOAEL)未満で有意な反応が認められ、追加試験を実施中。
- P：影響が既に認められている用量(LOEL, LOAEL)未満で有意な反応が認められたが、その意義については今後の検討課題とする。

なお、内分泌攪乱作用が疑われる化学物質のスクリーニング・試験法(哺乳類)評価検討会(座長：井上 達 先生)における審議の結果、正確な定量が行われていない可能性があると考えられた試験結果(肛門生殖突起間距離(AGD)等)及び悪影響とは考えられなかった試験結果(体重の高値、着床数の高値等)については、統計学的に有意な反応が認められた場合においても、とりまとめに採用しなかった。

経済産業省が実施した試験結果については、同省が公表した試験結果の評価(陰性、陽性)を記載した。

試験管内 (*in vitro*) 試験結果のとりまとめについて

試験濃度範囲を記載し、試験結果欄には、 IC_{50} 値 (標識されたホルモンと受容体との結合を 50% 阻害する濃度)、 PC_{50} 値 (E2 等が誘導する化学発光強度の 50% の活性を誘導する濃度)、又は Ec_{10} 値 (バックグラウンド値の 10 倍の化学発光強度比を示す濃度) 等が得られた場合はその値を記載し、得られなかった場合は最大反応値とその濃度を示した。

ただし、有意差検定を行い、有意な反応が認められなかった場合は、「」とした。また、細胞毒性が認められた場合、毒性影響と区別することが困難であった場合及び確認試験を実施中の場合は、その旨、備考欄に記載した。

フタル酸ジ-2-エチルヘキシル

プロトコル概要 (フタル酸ジ-2-エチルヘキシル)

被験物質	被験動物	使用動物数	投与方法	用量設定	投与量	試験方法の形式	母動物の観察項目	児動物の観察項目	備考
フタル酸ジ-2-エチルヘキシル	ラット Wistar Imamichi	雄 60 匹 雌 100 匹 各群 (雌) 15 匹×6 群	強制経口 コーン油 に溶解	0 10 50 250 1,250 100,000 μg/kg/day Canada 環境 曝露健康リ スク評価を 参考にした。	1 mL/kg/day	妊娠 0 日目から 哺育 21 日目まで の期間投与を継 続。 哺育 4 日目に各 腹雌雄各 4 匹と なるよう哺育児 を無作為選抜。	一般状態 体重測定 摂餌量測定 分娩と哺育状態の観察 剖検、器官重量測定、 保存、病理組織学的検 査 (下垂体、卵巢、病 変部の H+E 染色標本) ☆重量測定は、下垂体、 甲状腺、肝臓、脾臓、 腎臓、副腎、卵巢、こ れらに臓、子宮頸部、 乳腺組織を含む皮膚 を追加。	○哺育児の観察 (産児数、形態、AGD、乳頭の有無、 一般状態、体重)、剖検 (死亡児、瀕死屠殺児、間 引き児) ○雌乳児 (全 21 日齢児の半数を屠殺) の採血、血清 中ホルモン濃度 (雄の testosterone, FSH, LH、雌 の FSH, LH)、剖検、器官重量測定、保存 (肝臓、 精巣、精巣上体、前立腺+精嚢、卵巢、子宮) ○離乳児 (残り半数を継続飼育) の一般状態、体重 測定、性成熟観察 (陰開口、包皮分離)、性周期、 交配 (発情回数、交尾率、受胎率、任不妊判定) ○交尾後雌の体重測定、帝王切開 (妊娠黄体数、着 床数、胚の生死)、病理組織学的検査 ☆重量測定は、下垂体、甲状腺、副腎、卵巢、子 宮。保存は、これらに脳、陰、子宮頸部、乳腺 組織を含む皮膚、病変部を追加。 ○交尾後雄の剖検、精子検査 (精巣上体中精子数、 運動能)、病理組織学的検査 (下垂体、精巣、病変 部の H+E 染色標本)、器官重量測定、保存 ☆重量測定は、下垂体、甲状腺、肝臓、副腎、精 巣、精巣上体、凝固腺、精嚢、前立腺腹葉。保 存は、これらに脳、乳腺組織を含む皮膚、病変 部を追加。	

試験結果のまとめ表 (案)
フタル酸ジ-2-エチルヘキシル

(1) 生体内 (*in vivo*) 試験

実施機関	試験区分	用量		mg/kg/day		備考
		μ g/kg/day	50	250	1.25	
環境省	1 世代試験	D	C	D	D	強制経口 42 日間
経済産業省	ハニシバ・ガン・アケイ					実施中

注) A : 影響が既に認められている用量 (LOEL, LOAEL) 付近で有意な所見が認められた。

B : 影響が既に認められている用量 (LOEL, LOAEL) 未満で有意な反応が認められた。

C : 影響が既に認められている用量 (LOEL, LOAEL) 未満で有意な反応が認められたが、生理的変動の範囲内であると考えられた。

D : 有意な反応は認められなかった。

S : 影響が既に認められている用量 (LOEL, LOAEL) 未満で有意な反応が認められ、追加試験を実施中。

P : 影響が既に認められている用量 (LOEL, LOAEL) 未満で有意な反応が認められたが、その意義については今後の検討課題とする。

経済産業省が行った試験結果 (- : 陰性、 + : 陽性)

< * A で認められた所見 >

* F0 母動物: 肝臓 (絶対・相対) 重量の高値、小葉中心性肝細胞の腫大、肝臓のエオジン好性微細顆粒の増加、肝臓の腫大

(下線部は、報告例の得られた所見)

(2) 試験管内 (*in vitro*) 試験

実施機関	試験区分	試験結果	試験濃度範囲	備考
環境省	ER α 競合阻害	2.2 × 10 ⁻⁶ M において 17%	10 ⁻¹¹ ~ 4.5 × 10 ⁻⁶ M	
	ER β 競合阻害	2.2 × 10 ⁻⁶ M において 13%	10 ⁻¹¹ ~ 4.5 × 10 ⁻⁶ M	
	E-screen	-	10 ⁻⁹ ~ 10 ⁻⁴ M	10 ⁻⁴ M において細胞毒性
	AR β ポ-タージ-ン(アゴニスト)	-	10 ⁻⁶ ~ 10 ⁻⁵ M	
	AR β ポ-タージ-ン(アンタゴニスト)	-	10 ⁻⁶ ~ 10 ⁻⁵ M	
	AR 親和性	3.0 × 10 ⁻⁹ M において 1%	10 ⁻⁶ ~ 10 ⁻³ M	
	TR α	-	< 2 × 10 ⁻⁵ M	
	TR β	-	< 2 × 10 ⁻⁵ M	

注) IC₅₀ 値 (標識されたホルモンと受容体との結合を 50% 阻害する濃度)、PC₅₀ 値 (E2 等が誘導する化学発光強度の 50% の活性を誘導する濃度)、EC₅₀ 値 (バックグラウンド値の 10 倍の化学発光強度比を示す濃度) 等が得られた場合はその値を記載し、得られなかった場合は最大反応値とその濃度を示した。

ただし、有意差検定を行い、有意な反応が認められなかった場合は、一とした。

表 1

世 代		親:F0			児:F1			
投与量 (μg/kg)		0	10	50	250	1250	100000	
動物数(分娩動物)		14	15	15	15	14	14	
全産児死亡数		0	0	1	0	0	0	
雌 親 動 物	一般状態	異常なし		—	—	—	—	
	分娩状態	分娩遷延		0/15	0/15	0/15	0/15	
	体重 (g)	妊娠 0日	243.5 ±11.7	242.3 ±9.0	238.7 ±9.0	243.1 ±12.0	242.9 ±12.2	244.3 ±11.5
		妊娠 7日	279.2 ±13.0	277.0 ±9.6	271.7 ±12.7	277.2 ±13.1	276.7 ±14.1	276.0 ±15.3
		妊娠 10日	293.6 ±14.6	289.8 ±11.4	283.7 ±12.8	290.4 ±13.7	290.7 ±15.4	291.5 ±15.4
		妊娠 14日	315.7 ±19.5	314.1 ±12.0	308.7 ±14.4	313.6 ±14.1	314.9 ±18.5	318.0 ±17.4
		妊娠 21日	404.3 ±21.9	399.8 ±17.9	395.8 ±19.1	399.0 ±16.6	402.6 ±23.8	405.8 ±22.3
		哺育 0日	285.9 ±16.2	282.7 ±17.2	286.6 ±16.6	284.0 ±24.2	281.6 ±13.8	290.5 ±26.1
		哺育 4日	294.8 ±13.8	296.2 ±17.7	291.0 ±16.6	290.1 ±15.2	296.3 ±17.2	295.4 ±20.0
		哺育 10日	312.5 ±21.7	314.8 ±14.2	306.7 ±10.7	309.2 ±14.4	314.9 ±19.5	321.9 ±19.1
		哺育 14日	331.4 ±20.9	330.4 ±12.5	321.2 ±13.3	327.4 ±14.5	326.7 ±20.2	333.9 ±24.9
		哺育 21日(剖検日)	327.5 ±16.8	327.6 ±16.0	324.0 ±13.2	323.8 ±9.8	323.4 ±16.0	336.6 ±22.7
	体重増加量 (g)	妊娠0-7日	35.7 ±6.7	34.7 ±6.2	33.0 ±7.0	34.0 ±5.4	33.8 ±5.9	31.7 ±7.7
		妊娠0-10日	50.4 ±8.4	47.5 ±7.8	45.0 ±8.5	47.2 ±6.0	47.8 ±6.6	47.2 ±8.6
		妊娠0-21日	160.8 ±16.5	157.5 ±14.7	157.1 ±14.0	155.8 ±8.0	159.7 ±16.5	161.6 ±15.6
		哺育0-7日	18.7 ±18.2	23.5 ±18.1	13.2 ±18.5	14.5 ±17.9	21.8 ±17.6	17.3 ±15.8
		哺育0-10日	26.6 ±22.0	32.0 ±15.8	20.1 ±18.6	25.2 ±17.8	33.3 ±16.8	31.4 ±15.6
		哺育0-21日	41.5 ±14.7	44.8 ±12.2	37.3 ±15.1	39.8 ±23.1	41.8 ±13.3	46.1 ±15.3
	摂餌量 (g)	妊娠 0-1日	20.4 ±1.6	19.9 ±2.4	19.4 ±3.8	20.3 ±2.7	21.5 ±2.2	19.9 ±3.2
		妊娠 7-8日	26.8 ±2.8	25.3 ±3.0	25.5 ±1.8	26.1 ±1.9	25.4 ±2.4	25.4 ±2.3
妊娠 14-15日		26.9 ±3.2	26.2 ±2.9	25.9 ±3.1	26.7 ±2.3	27.3 ±2.3	27.5 ±3.1	
妊娠 20-21日		16.5 ±2.5	17.3 ±3.8	18.2 ±3.1	17.7 ±2.7	16.5 ±3.6	18.2 ±4.4	
哺育 3-4日		38.1 ±3.8	36.1 ±5.5	36.6 ±4.8	34.5 ±5.0	37.7 ±4.9	35.0 ±4.3	
哺育 6-7日		37.4 ±5.4	37.4 ±4.5	38.1 ±3.6	37.0 ±3.8	38.1 ±4.6	38.0 ±6.8	
哺育 9-10日		46.9 ±9.1	46.4 ±4.9	45.4 ±4.3	47.7 ±5.5	49.5 ±5.2	48.9 ±4.7	

表 2

世代		親:F0			児:F1				
投与量 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)		0	10	50	250	1250	100000		
動物数(分娩動物)		14	15	15	15	14	14		
雌 親 動物	繁殖成績	出産率(%)	100	100	100	100	100		
		妊娠期間(日)	21.7 ± 0.5	21.9 ± 0.4	21.6 ± 0.8	21.9 ± 0.4	21.8 ± 0.4	21.9 ± 0.5	
		着床数	17.2 ± 1.3	16.5 ± 1.9	15.9 ± 4.3	16.9 ± 1.6	16.6 ± 1.7	17.2 ± 1.1	
		出産仔数	15.8 ± 1.5	15.7 ± 2.0	14.9 ± 4.1	15.7 ± 2.0	16.1 ± 2.1	15.9 ± 1.8	
	器官重量	絶対重量	下垂体(mg)	10.0 ± 0.9	10.1 ± 1.7	10.1 ± 1.3	9.7 ± 1.0	9.9 ± 0.9	10.4 ± 0.9
			甲状腺(左右)(mg)	14.3 ± 2.5	14.1 ± 2.4	13.0 ± 2.9	14.2 ± 2.5	13.9 ± 3.3	14.1 ± 2.7
			肝臓(g)	15.41 ± 1.09	15.36 ± 1.14	15.57 ± 0.99	15.26 ± 1.27	15.59 ± 1.25	17.05▲ ± 1.65
			副腎(左右)(mg)	67.1 ± 7.7	60.8 ± 6.1	62.5 ± 4.3	61.3 ± 6.4	64.5 ± 5.7	64.0 ± 6.3
			卵巢(左右)(mg)	83.3 ± 6.4	83.8 ± 9.1	80.3 ± 9.3	81.0 ± 8.3	78.3 ± 7.9	80.8 ± 5.2
			子宮(mg)	237.5 ± 37.7	240.1 ± 43.9	243.6 ± 40.6	222.9 ± 49.9	221.9 ± 40.0	233.3 ± 52.2
		相対重量(%)	下垂体	3.1 ± 0.3	3.1 ± 0.5	3.1 ± 0.4	3.0 ± 0.3	3.0 ± 0.2	3.1 ± 0.2
			甲状腺(左右)	4.4 ± 0.7	4.3 ± 0.8	4.0 ± 0.8	4.4 ± 0.7	4.3 ± 1.0	4.2 ± 0.9
			肝臓	4.70 ± 0.25	4.69 ± 0.30	4.81 ± 0.23	4.71 ± 0.33	4.81 ± 0.22	5.07▲ ± 0.27
			副腎(左右)	20.5 ± 2.4	18.6 ± 1.8	19.3 ± 1.6	18.9 ± 1.8	20.0 ± 1.6	19.1 ± 1.7
			卵巢(左右)	25.5 ± 1.9	25.6 ± 2.8	24.8 ± 2.8	25.0 ± 2.4	24.2 ± 2.2	24.1 ± 1.4
			子宮	73.8 ± 11.6	72.7 ± 13.8	75.1 ± 10.1	68.7 ± 14.6	69.6 ± 11.2	69.4 ± 15.2
	剖検	肝臓腫大	0/14	0/15	0/14	0/15	0/14	2/14	
	組織所見	下垂体	ラケ囊由来の囊胞遺残(±)	0/14	0/15	0/14	0/15	1/14	0/14
		肝臓	小葉中心性肝細胞腫大(±)	0/14	NE	NE	NE	0/14	3/14↑
			エオジン好性顆粒増加(±)	0/14	NE	NE	NE	0/14	6/14▲
卵巢*		異常なし	—	—	—	—	—	—	
子宮*		異常なし	—	—	—	—	—	—	
膈*	異常なし	—	—	—	—	—	—		

*:全産児が死亡した1匹(50 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 投与群)を除く